

INTRANASALE SCHUTZIMPFUNG
GEGEN DIE PASTEURELLOSE
DER KÄLBER:
KLINISCHE PRÜFUNG
UND ANTIKÖRPERNACHWEIS
IM NASENSCHLEIM MIT DEM ELISA

Gertraud Klein

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie
Infektions- und Seuchenmedizin der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr

INTRANASALE SCHUTZIMPFUNG GEGEN DIE PASTEURELLOSE
DER KÄLBER: KLINISCHE PRÜFUNG UND
ANTIKÖRPERNACHWEIS IM NASENSCHLEIM MIT DEM ELISA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Gertraud Klein
aus
Wollishausen

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr

Korreferent: Prof. Dr. Dr. h.c. G. Dirksen

Tag der Promotion: 24. Juli 1987

Meinen Eltern
und Klaus
in Dankbarkeit

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. SCHRIFTTUM	3
2.1. <u>Vorkommen von Pasteurella haemolytica und Pasteurella multocida bei der enzootischen Bronchopneumonie der Kälber</u>	3
2.2. <u>Schutzimpfungen gegen Pasteurella-Infektionen beim Kalb</u>	5
2.2.1. Lebendimpfstoffe	5
2.2.2. Impfstoffe aus inaktivierten Keimen	10
2.2.3. Spalt- und Lysatimpfstoffe	13
2.2.4. Kommerzielle Impfstoffe	15
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	17
3.1. <u>Material und Methoden</u>	17
3.1.1. Versuchstiere	17
3.1.2. Impfstoff	17
3.1.3. Applikation	18
3.1.4. Antikörnernachweis	19
3.1.4.1. Probenentnahme	19
3.1.4.2. ELISA	19
3.1.5. Klinische Prüfung	21
3.2. <u>Ergebnisse</u>	22
3.2.1. Antikörnernachweis	22
3.2.2. Klinische Prüfung	27

		Seite
4.	BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	41
5.	ZUSAMMENFASSUNG	46
	SUMMARY	47
6.	LITERATURVERZEICHNIS	48

Lebenslauf

1. EINLEITUNG

Die Pasteurella-Infektionen verursachen bei Zucht- und Mastkälbern, meist im Zusammenwirken mit Virusinfektionen, schwere Bronchopneumonien. Vor allem die sekundär auftretenden Pasteurellosen führen zu Tierverlusten oder irreparablen Veränderungen im Lungengewebe. Schutzimpfungen gegen die Pasteurellose der Rinder sind bisher wegen der geringen Schutzwirkung und des großen Impfschadenrisikos abgelehnt worden. Die meisten der bisherigen Impfergebnisse beruhen auf Erfahrungen mit der parenteralen Applikation. Da die Pasteurellen primär über die Schleimhäute des Respirationstraktes in den Organismus eindringen, war es naheliegend, auch die intranasale Impfung zu erproben. Die intranasale Impfung hat gegenüber der parenteralen Impfung den Vorteil, daß erstens eine lokale und systemische Immunität aufgebaut wird und zweitens das Risiko eines Impfschadens bzw. einer Impfkomplication wesentlich niedriger ist (Baljer, 1980; Mayr, 1980; Mayr et al., 1984).

In experimentellen Untersuchungen bei der Maus wurde die Wirksamkeit der intranasalen Impfung mit inaktivierten Pasteurella-Impfstoffen nachgewiesen (Baljer et al., 1982; Waldner, 1982). Die Anwendung eines polyvalenten intranasal zu applizierenden Pasteurella-Impfstoffes führte in Kälbermastbetrieben zu einer deutlichen Senkung der Morbiditätsraten und des Arzneimittelverbrauches (Waldner, 1982; Waldner, 1984).

Die vorliegende Arbeit hatte das Ziel, die Wirksamkeit eines Pasteurella-Impfstoffes bei Zuchtkälbern zu untersuchen. Dazu wurden Kälber unterschiedlichen Alters aus verschiedenen Zuchtbeständen mit der polyvalenten Pasteurella-Vaccine geimpft und a) vor und zu verschiedenen Zeiten nach der Impfung der spezifische Antikörpergehalt gegen die Pasteurella-Impfantigene in den Nasenschleimproben mit dem ELISA bestimmt, sowie b) die klinische Situation bei geimpften Kälbern mit der nicht geimpfter Zuchtkälber verglichen.

2. SCHRIFTTUM

2.1. Vorkommen von Pasteurella haemolytica und Pasteurella multocida bei der enzootischen Bronchopneumonie der Kälber

Die enzootische Bronchopneumonie (syn. "shipping fever", "transit fever", "Rinder Grippe") tritt weltweit auf (Carter, 1981; Yates; 1982; Earle, 1983; Gibbs et al., 1984). Unter den vielen Faktoren, die für das Auftreten dieser Erkrankung verantwortlich sind, haben vor allem die Pasteurellen als Sekundärerreger einen erheblichen Einfluß auf die Schwere der Erkrankung (Jericho u. Langford, 1978; Jericho et al., 1982; Yates, 1983; Yates et al., 1983; Jericho u. Carter, 1984; Panciera u. Corstvet, 1984; Rolle u. Mayr, 1984). Je nach Region sind in unterschiedlichem Maße *P. multocida*-Stämme mit den Kapseltypen A, B, D oder E bzw. *P. haemolytica*-Serotypen A₁ und A₂ beteiligt. Erkrankungen mit *P. haemolytica* A₁ und A₂ sowie mit *P. multocida* A und D verlaufen in der Regel milder als Infektionen mit *P. multocida* B und E (Carter u. Chengappa, 1981; Rolle u. Mayr, 1984; Cameron u. Bester, 1986; Nagy et al., 1986).

Blobel et al. (1985) wiesen aus Nasentupfer- und Organproben von Kälbern, die ihnen von den Untersuchungsämtern in der BRD zwischen 1983 und 1985 zugesandt worden waren, in 69,7% der Proben *Pasteurella*-Keime nach. Davon waren 69,8% *P. multocida*-Stämme und zwar 70,1% vom Kapseltyp A, 1,3% vom Kapseltyp B und 10,8% vom Kapseltyp D.



Bei 17,8% der *P.multocida*-Stämme war keine eindeutige serologische Typisierung möglich. Kapseltyp E konnte in den Proben nicht nachgewiesen werden. *P.haemolytica* wurde nur bei 15,1% der Fälle gefunden, ohne daß eine genauere Differenzierung durchgeführt wurde.

In der DDR und in Rumänien wurden ebenfalls *P.multocida*-Stämme am häufigsten bei Kälbern mit enzootischer Bronchopneumonie isoliert (Jordache u. Ungureanu, 1981; Ungureanu et al., 1981; Kielstein u. Schimmel, 1983), wobei ebenfalls Kapseltyp A-Stämme dominierten, gefolgt von Kapseltyp B-Stämmen (Schimmel et al., 1983).

In Schottland und in Nordamerika wurde dagegen bei Kälbern mit "shipping fever" häufiger *P.haemolytica* als *P.multocida* isoliert (Yates, 1982; Gibbs et al., 1983; Adlam et al., 1984; Chang et al., 1985). Dabei dominierte vor allem der *P.haemolytica*-Serotyp A₁ (Shewen u. Wilkie, 1982; Gibbs et al., 1983; Lessley et al., 1985).

In den afrikanischen Ländern herrscht vor allem *P.multocida*-Kapseltyp E vor (Cameron u. Bester, 1986).

2.2. Schutzimpfungen gegen Pasteurella- Infektionen beim Kalb

2.2.1. Lebendimpfstoffe

Sowohl gegen *P. haemolytica* als auch gegen *P. multocida* wurden Lebendimpfstoffe zur parenteralen oder lokalen Impfung von Kälbern und Rindern entwickelt. Catt et al. (1985) verwendeten zur Impfung einen Streptomycin-abhängigen *P. multocida* A:3- und *P. haemolytica* A₁-Stamm und setzten ihn bei 12 etwa 130 kg schweren Holstein-Friesian Jungrindern ein. Zum Vergleich dienten Ergebnisse mit einer nicht näher beschriebenen Pasteurella-Vaccine aus inaktivierten Keimen und einer Placebo-Vaccine (phosphatgepufferte Kochsalzlösung). Die Impfdosis betrug 1×10^6 Kolonie bildende Einheiten (KBE) bei *P. multocida* bzw. 4×10^8 KBE bei *P. haemolytica*. Die intramuskuläre Applikation erfolgte zweimal im Abstand von 14 Tagen. Zwei Wochen nach einer 2. Impfung wurden die Tiere intranasal mit IBR-Virus und drei Tage darauf intratracheal mit $2,3 \times 10^7$ KBE einer 16 Stunden alten Kolonie von *P. multocida* A:3 und $2,6 \times 10^8$ KBE einer 8 Stunden alten Kolonie von *P. haemolytica* A₁ infiziert (Rimler u. Rhoades, 1981; Ames et al., 1985). Die mit der Lebendvaccine geimpfte Gruppe hatte eine etwas geringere Morbiditätsrate, einen signifikanten Antikörper-Titer Anstieg gegenüber *P. haemolytica* A₁ (die *P. multocida* Antikörper-Titer waren bei der IHA-Methode inkonstant) und weniger makroskopisch und mikroskopisch feststellbare Veränderungen des Lungengewebes.

Eine ähnliche Vaccine wurde ebenfalls mit Erfolg

bei Kaninchen eingesetzt (Lu u. Pakes, 1981).

Confer et al. (1985) setzten in drei Experimenten einen *P. haemolytica* A₁-Lebendimpfstoff ein und prüften ihn im Vergleich zu einer nicht näher beschriebenen Vaccine aus inaktivierten *P. multocida*- und *P. haemolytica*-Keimen und einer Placebo-Vaccine (phosphatgepufferte Kochsalzlösung). Die 6-8 Monate alten Rinder erhielten via Aerosol oder parenteral an den Tagen 0 und 7 je 1×10^9 KBE der Impfkkeime. Am Tag 21 erfolgte eine transthorakale Injektion mit je 5×10^9 KBE *P. haemolytica* A₁ pro Lungenhälfte. Bei jedem Tier war zwischen den Tagen 0 und 21 ein Titeranstieg zu verzeichnen, wobei die mit Lebendimpfstoff vaccinierten Tiere die höchsten Werte aufwiesen. Nur bei diesen Tieren korrelierte die Titerhöhe mit dem Grad der Resistenz gegenüber einer experimentellen Infektion. Die mit dem Lebendimpfstoff geimpften Tiere wiesen die geringsten Gewebeschäden bei der Sektion auf. Confer schließt aus den Ergebnissen, daß nur eine Impfung mit einem Lebendimpfstoff einen Schutz bieten kann, da bei der Inaktivierung der Pasteurellen wichtige Antigene zerstört werden und außerdem ohne Vermehrung des Impfkkeims im Wirt keine schützende Immunität aufgebaut wird.

In einer weiteren Studie (Confer et al., 1985) übernahm Confer die schon genannte Impfmethode und bestimmte die Antikörper-Bildung gegenüber den sechs Antigenen von *P. haemolytica* (Lessley et al., 1985). Er stellte fest, daß die mit Lebendimpfstoff vaccinierten Tiere höhere Antikörper-Werte gegenüber

den P.haemolytica-Antigenen 1, 5 und 6 besaßen als Tiere, die mit inaktivierter Vaccine geimpft worden waren. Es bestand auch eine signifikante Korrelation zwischen den Antikörper-Titern gegen die Antigene 1, 5 und 6 und dem Schutz vor einer experimentellen Infektion.

Newman et al.(1982), die 6-8 Monate alte Tiere zweimal im Abstand von 7 Tagen mit einem Lebendimpfstoff aus P.haemolytica A₁- und P.multocida-Keimen vaccinierten, konnten nach einer transthorakalen Infektion nachweisen, daß der Impferfolg von der Applikationsweise abhängig war und zwar wiesen die per Aerosol geimpften Tiere nach der Infektion viel weniger Pasteurellen in der Lunge auf als die parenteral geimpften. Der Grad der Wirkung war jedoch abhängig von der Aerosoleinwirkungsdauer. Nach Newman wird erst ab einer 15-minütigen Aerosoleinwirkung ein Schutz erreicht.

Keinen Einfluß auf Morbidität oder Mortalität hatten Impfungen bei 368 Mastkälbern in "feedlots", die mit einer P.haemolytica-Lebendvaccine oder einer, inaktivierte Keime enthaltenden Vaccine, durchgeführt wurden (Confer et al., 1983). Sowohl bei geimpften als auch bei nicht geimpften Kontrolltieren kam es zwischen dem 28. und 30. Tag nach der Aufstallung zu einem signifikanten Titeranstieg. Tiere, die vorübergehend respiratorisch erkrankten, zeigten höhere Antikörper-Titer als Tiere, die gesund blieben. Gesunde Tiere wiederum hatten zur Zeit der Aufstallung die höchsten Titer. Tiere, die an fibrinöser Pneumonie verendeten, wiesen die niedrigsten Titer auf.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Shewen u. Wilkie (1982), die Antikörper-Titer Bestimmungen gegen *P.haemolytica* mittels indirekter Bakterienagglutination bei zur Mast zusammengetriebenen geimpften und nicht geimpften Kälbern durchführten.

Nach Jericho et al.(1985) schützen dabei komplementbindende Antikörper nicht, wogegen Antikörper vom Typ IgG₂, die das von *P.haemolytica* A₁ gebildete Cytotoxin (Wilkie et al., 1980; Rush et al., 1981; Ames et al., 1985; Chang et al., 1985) zu neutralisieren vermögen, einen Schutz bieten können (Cho et al., 1984).

Jericho u. Langford (1982) impften Kälber per Aerosol 1-, 2- oder 3-mal mit einer *P.haemolytica*-Lebendvaccine. 3-4 Wochen später stressten sie die Tiere durch Absetzen von der Milch und infizierten sie per Aerosol zuerst mit BHV₁ und 4 Tage darauf mit *P.haemolytica*. Weder die einmalige noch die mehrmalige Impfung schützte die Kälber vor einer experimentellen Infektion. Bei den geimpften Tieren wurden zwar im Vergleich zu den nicht geimpften Kontrolltieren weniger Pasteurellen im Lungengewebe gefunden, die Keimkonzentration war aber immer noch zu hoch, um von einem ausreichenden Schutz sprechen zu können (Lopez et al., 1982).

Erfolgreich waren dagegen Donachie et al.(1986) mit einer *P.haemolytica* A₂-Vaccine, die im Aerosol an SPF-Lämmer verabreicht wurde. Die Tiere erkrankten im Gegensatz zu den Kontrollämmern nicht und wiesen höhere Antikörper-Titer auf.

Mit Akridinsalzen behandelte noch lebende *P.multocida*- und *P.haemolytica* A₁-Keime wurden zur Immunisierung von Kälbern verwendet (Kucera et al., 1981 u. 1983). Die Impfdosis betrug bei *P.multocida* 1×10^8 bis 1×10^{10} KBE und bei *P.haemolytica* 3×10^8 und 3×10^9 KBE. Die Impfung erfolgte intramuskulär zweimal im Abstand von 4 bis 6 Wochen. Nach experimenteller Infektion mit BHV₁ und/oder *P.multocida* bzw. *P.haemolytica* wiesen die geimpften Tiere einen Schutz auf, der bei *P.multocida* sogar serotypübergreifend war, während die nicht geimpften Kälber an schweren Pneumonien erkrankten.

In einem weiteren Impfversuch (Kucera u. Wong, 1986) mit einem Impfstoff aus mit Akridinsalzen behandelten *Pasteurella*-Stämmen wurden die geimpften Kälber und nicht geimpfte Kontrolltiere mit experimentell infizierten (BHV₁-Infektion) Kälbern zusammengebracht. Nach einer zusätzlichen Infektion mit *Pasteurellen* blieben die geimpften Tiere gesund, während die nicht geimpften Kälber Krankheitssymptome in den oberen und unteren Luftwegen entwickelten.

Eine von Earle (1983) in den USA geprüfte und von Smith entwickelte *P.haemolytica*-Vaccine (PRECON-PH^R) ist bereits im Handel. Eine einmalige intradermale Impfung mit 4×10^6 abgeschwächten *P.haemolytica*-Keimen führte in Feldversuchen zur Reduzierung der Morbiditätsrate bei "feedlot"-Kälbern. Die intradermale Applikation löste jedoch bei nahezu 50% der geimpften Tiere Hautreaktionen aus.

2.2.2. Impfstoffe aus inaktivierten Keimen

Confer et al.(1983 u. 1985) und Catt et al.(1985) verglichen die Wirksamkeit von nicht näher beschriebenen Pasteurella-Impfstoffen auf der Basis inaktivierter Keime mit der von Lebendimpfstoffen. Da die inaktivierten Impfstoffe wirkungslos blieben, gingen sie in der Beschreibung nicht näher auf die inaktivierten Impfstoffe ein (vgl. Kap. 2.2.1.).

Müller und Heilmann (1986) stellten bei Immunisierungsversuchen bei Mäusen fest, daß formalin-abgetötete Bakterien von *P.multocida* B weniger Schutz bei Belastungsinfektionen boten, als eine Lebendvaccine.

Erfolglos blieben auch die Impfversuche mit inaktivierten Keimen bei Wilkie et al.(1980) und Friend et al.(1977). Wilkie et al. impften Kälber mit einer *P.haemolytica* A₁-Vaccine aus formalin-inaktivierten Keimen mit Freundschem kompletten Adjuvans subkutan oder intrabronchial. Nach einer Testinfektion hatten die subkutan immunisierten Kälber eine höhere Erkrankungsrate als die Kontrolltiere. Wilkie vermutet, daß die postvaccinalen Antikörper die Wirkung des Pasteurella-Cytotoxins, das gegen Makrophagen gerichtet ist, steigern.

Friend et al. verwendeten formalininaktivierte *P. haemolytica* A₁-Keime mit komplettem oder inkomplettem Freundschem Adjuvans zur subkutanen Impfung oder zur Aerosolimpfung von Kälbern.

Nach intrabronchialer Infektion hatten Kälber mit den höchsten postvaccinalen Antikörper-Titern die stärksten Lungenveränderungen, während bei der Kontrollgruppe die Tiere mit den höchsten natürlichen Antikörper-Titern die geringsten Veränderungen nach der Testinfektion aufwiesen. Friend nimmt an, daß die negative Wirkung auf eine postvaccinale Hypersensibilität des Lungengewebes zurückzuführen ist.

Martin (1983) ist grundsätzlich der Meinung, daß Pasteurella-Impfstoffe aus inaktivierten Keimen, zumindest bei parenteraler Applikation, einen nachteiligen Effekt auf die Immunabwehr haben.

Daneben gibt es aber auch positive Immunisierungsergebnisse mit inaktivierten Pasteurella-Impfstoffen (Baljer et al., 1982; Waldner, 1982; Zangerle, 1982; Waldner, 1984). In experimentellen Untersuchungen bei der Maus wurde die Wirksamkeit eines Impfstoffes aus hitzeinaktivierten *P. multocida* A-Keimen bei subkutaner, oraler und nasaler Applikation geprüft (Baljer et al., 1982; Waldner, 1982). Der Impfstoff war sowohl bei subkutaner als auch bei oraler und intranasaler Applikation wirksam. Die erzielten Schutzwerte lagen bei allen drei Applikationsarten deutlich über dem von Ose und Münster geforderten Mindestschutzwert. Die dafür notwendigen Impfdosen betrugen $1,25 \times 10^{11}$ für die zehnmalige orale, $2,5 \times 10^{10}$ für die zweimalige subkutane und 3×10^9 inaktivierte Keime für die einmalige intranasale Impfung. In einem Kälbermastbetrieb konnte nach intranasaler Impfung mit einem stallspezifischen

Pasteurella-Impfstoff aus hitzeinaktivierten Keimen die Morbiditätsrate von 30,4% auf 20,5% gesenkt werden. Die mit demselben Impfstoff intramuskulär geimpfte Tiergruppe hatte eine Morbiditätsrate von 23,2% und die oral geimpfte Gruppe eine Morbiditätsrate von 26,7% (Zangerle, 1982). Eine polyvalente Pasteurella-Vaccine aus hitzeinaktivierten Keimen von *P.multocida* A, B, D, E und *P.haemolytica* A₁ und A₂ senkte in Kälberaufzucht- und Kälbermastbetrieben bei zehnmaliger oraler Applikation die Morbiditätsrate im Vergleich zu Kontrolltieren um 10 bis 20 Prozent, nach zweimaliger intranasaler Impfung um bis zu 30% (Waldner, 1982). Das Ergebnis der intranasalen Impfung konnte durch eine Kombination mit einem Paramunitätsinducer noch deutlich verbessert werden.

Ungureanu et al. (1981) impften 6-8 Monate alte Jungrinder mit einem polyvalenten Pasteurella-Impfstoff, der formalininaktivierte *P.multocida*-Keime mit den Kapselantigenen A, B, D und *P.haemolytica*-Keime der Serotypen A₁, A₅, A₆ und T₄ sowie Aluminiumhydroxid enthielt. Die Impfung erfolgte 24-48 Stunden nach der Aufstallung im Betrieb zusammen mit einem Kombinationsimpfstoff aus attenuiertem BVD-, IBR- und PI₃-Virus. Geimpfte Tiergruppen erkrankten seltener und wenn dann wesentlich leichter an Pneumonien als nicht geimpfte Rinder. Die Mortalität sank in der Impfgruppe um die Hälfte.

2.2.3. Spalt- und Lysatimpfstoffe

In den letzten Jahren gab es vermehrt Untersuchungen, Spalt- oder Extraktimpfstoffe zu entwickeln. Es wurde versucht, die für den Impfling schädlichen Komponenten der Pasteurella-Keime zu entfernen, um einen optimalen Schutz durch die alleinige Impfung mit den immunogenen Strukturen zu erzielen (Mayr, 1986).

Mit einem nicht näher beschriebenen Extrakt eines *P.haemolytica* (Serotyp A₁)- Stammes wurden fünf 10 Tage alte Kälber subkutan geimpft. Neun Wochen später erfolgte die Testinfektion mit demselben Stamm mittels Aerosolisierung und intravenöser Injektion von 20 ml einer Keim-Agar-Aufschwemmung. Die geimpften Kälber hatten im Vergleich zu den Kontrollkälbern weniger und kürzer andauernde respiratorische Symptome und keine pathologisch-anatomischen Veränderungen in der Lunge (Gilmour et al., 1982).

Erler et al.(1983) immunisierten Kälber mit einem Kochsalzextrakt nach Rebers (1967) des virulenten *P.multocida*-Stammes "P 383". Dieser Extrakt bestand aus einem Lipopolysaccharid-Protein-Komplex, wobei das Lipopolysaccharid für die serologische Spezifität und das Protein für die Immunität verantwortlich sein soll. Drei Wochen nach einer zweimaligen subkutanen Impfung mit unterschiedlichen Dosen des Extrakts wurden die Kälber intratracheal mit 2 bis 5×10^9 Keimen des *P.multocida*-Stammes "P 383" infiziert. Geimpfte Kälber wiesen einen

homologen dosisabhängigen Schutz auf. Ein heterologer Schutz gegen andere Pasteurella-Stämme wurde nicht beschrieben. Die spezifischen Antikörpertiter stiegen nach der 2.Impfung um das acht- bis neunfache an. Einen belastbaren Schutz besaßen die Tiere erst nach der 2.Impfung. Der Schutz erstreckte sich dann über mindestens 12 Wochen. Geimpfte Kälber zeigten in der Regel nur geringgradige Pneumonien, wohingegen bei den Kontrolltieren schwere fibrinöse Pneumonien auftraten. Die Impfung kann ab dem 4.Lebenstag durchgeführt werden. Bei jüngeren Kälbern (1. bis 3. Lebenstag) kommt es dagegen zu Impfreaktionen.

Yates et al.(1983) impften 8-9 Monate alte Rinder mit einem Kalium-Thiozyanat-Extrakt von *P.haemolytica* A₁-Keimen in unterschiedlicher Dosierung entweder zweimal via Aerosol (30-minütige Sprühdauer) im Abstand von 14 Tagen oder einmal subkutan bzw. intramuskulär. Geimpfte und nicht geimpfte Kontrolltiere wurden am 27.Tag nach der Impfung mit BHV₁ und am 31.Tag mit $2,4 \times 10^8$ *P.haemolytica*-Keimen per Aerosol infiziert. Die Aerosolimpfung hatte nur eine geringe Schutzwirkung, während die parenterale Impfung, auch in niedrigen Impfdosisbereichen, zu einer Senkung der Morbiditäts- und Mortalitätsraten führte. Geimpfte Kälber wiesen auch weniger bzw. geringgradigere Lungenveränderungen auf als nicht geimpfte Kälber.

Spalt- oder Extraktimpfstoffe, die aus Kohlenhydrat-Protein-Komplexen (Syuto u. Matsumoto, 1982), Kochsalzextraktantigenen (Donachie et al., 1982)

bzw. Kapsel- und Polysaccharid-Antigenen (Kodama et al., 1982) bestanden, wurden auch mit Erfolg bei Truthühnern, Kaninchen und Schafen eingesetzt.

2.2.4. Kommerzielle Impfstoffe

In der BRD sind derzeit nur Impfstoffe gegen die Pasteurellose im Handel, von denen keine experimentellen Wirksamkeitsuntersuchungen vorliegen, sondern die auf empirischer Basis entwickelt wurden.

Bei diesen Impfstoffen handelt es sich meist um Kombinationsimpfstoffe aus inaktivierten *P.multocida*- und *P.haemolytica*-Keimen (Witzigmann, 1982) mit folgender Zusammensetzung:

Multigal^R (WDT): Je $1,5 \times 10^8$ abgetötete Keime von *E.coli*, *P.haemolytica*, *P.multocida*, *S.dublin*, *S.enteritidis*, *S.rostock*, *S.typhimurium*, *Str.pneumoniae*, *Str.zooepidemicus*. Der Impfstoff wird empfohlen zum Einsatz bei Muttertieren oder bei Jungtieren ab der 4. bis 5.Lebenswoche. Die Applikation erfolgt zweimal intramuskulär im Abstand von 3 Wochen.

Multigal-SV^R (WDT): Eine Vaccine mit der gleichen Zusammensetzung wie oben genannt, nur mit einem 10-fach höheren Keimgehalt bei den *P.multocida*- und *P.haemolytica*-Quoten und einer Immunserumkomponente zur kombinierten aktiv/passiv Immunisierung bei Jungtieren.

Pasteurella-Impfstoff^R (WDT): Eine Vaccine mit

mindestens 10^9 abgetöteten Keimen von *P.haemolytica* und *P.multocida* pro 1 ml Suspension. Sie kann als 2-malige Impfung ab der 4. bis 5.Lebenswoche bei Kälbern oder als Mutterschutzimpfung eingesetzt werden.

Vituserin^R (IFFA-MERIEUX): Die Vaccine enthält pro 100 ml Suspension 35,7 ml formalininaktivierte *E.coli*, 26,0 ml Pneumokokken-Antigen und 5,0 ml Pasteurellen-Antigen. Die Vaccine wird zur aktiven Immunisierung der Neugeborenen (in den ersten 24 Lebensstunden) bzw. als Mutterschutzimpfung empfohlen.

Sero-Vaccine^R (HYDRO-CHEMIE): Ein Impfstoff aus abgetöteten Keimen von *Str.pneumoniae*, *E.coli* 078, 086, 0111, *S.dublin*, *S.typhimurium*, *P.multocida* und Immunserum (keine Angaben über Keimmengen). Als Indikationen werden die aktive Immunisierung von Jungtieren (ab dem 1.Lebenstag), die Mutterschutzimpfung und die Behandlung von Jungtierkrankheiten genannt.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Versuchstiere

Für die Untersuchungen standen 99 Kälber für die Antikörper-Titer Bestimmung und 420 Kälber zur klinischen Prüfung aus 26 Braunviehzuchtbetrieben zur Verfügung. Die zur eigenen Nachzucht bestimmten Kälber wurden sehr unterschiedlich gehalten und zwar entweder im Stall zusammen mit den Kühen, in abgetrennten Jungviehabteilungen in Einzelboxen, in Anbindehaltung oder in Laufstallbuchten. Die Fütterung erfolgte mit reiner Vollmilch oder mit Milchaustauscher sowie, ab einem bestimmten Alter, zusätzlich mit Heu.

3.1.2. Impfstoff

Zur Immunisierung diente ein polyvalenter Pasteurella-Impfstoff aus folgenden Impfstämmen: P.multocida 7:A, P.multocida 11:B, P.multocida 4:D, P.multocida 6:E, P.haemolytica A₁ und P.haemolytica A₂. Die Impfstämme wurden lyophilisiert in Ampullen bei 4°C bis 8°C gelagert. Zur Impfstoffherstellung wurden die Keime auf Blutagarplatten angezüchtet und biochemisch und serologisch identifiziert. Mit den Keimen der Agarplatte wurde dann eine Starterkultur angelegt, die zur Beimpfung der Fermenterbouillon diente. Die Bouillon hatte folgende Zusammensetzung: 0,5% Fleischextrakt, 1% Pepton S, 0,75% Hefeextrakt, 0,10% Dextrose, 0,85% Na₂HPO₄.

und 0,15% KH_2PO_4 . Der Fleischextrakt wurde in 30% Aqua dest. bei pH 7,6 - 7,8 15 Minuten gekocht, abgekühlt und durch Faltenfilter filtriert. Anschließend wurden alle Substanzen mit der Fleischextraktlösung gemischt. Der pH wurde auf 7,5 - 7,8 eingestellt und nach Zugabe der restlichen Menge Aqua dest. wurde der fertige Nährboden 15 Minuten autoklaviert.

Die Fermenterbouillon wurde nach dem Beimpfen 18 bis 20 Stunden bei 37°C bebrütet. Während der Beimpfung wurde gerührt und belüftet. Anschließend wurde die Bouillon mit 0,3% Formaldehyd weitere 24 Stunden bebrütet. Die Ernte der Impfkeime erfolgte durch Zentrifugation (3000 UpM/45 Minuten). Das Keimkonzentrat (Bodensatz) wurde anschließend autoklaviert. Die formalinisierten und autoklavierten Keime bildeten das Impfantigen. Der Antigengehalt wurde über die Bestimmung der optischen Dichte und die Immunogenität im Mäuseschutzversuch nach Ose und Münster bestimmt. Die Keimkonzentrate der sechs verschiedenen Pasteurella-Impfstämme wurden durch Zugabe von physiologischer Kochsalzlösung auf die Gebrauchsverdünnung eingestellt und anschließend zu gleichen Teilen in die Vaccine eingemischt. Die einmalige Impfdosis pro Impfstamm enthielt etwa 1×10^{10} formalinisierte und autoklavierte Keime.

3.1.3. Applikation

Der polyvalente Pasteurella-Impfstoff wurde mittels Sprühadapter intranasal versprüht. Das Impfvolumen

betrug 2 ml, wobei bei jedem Kalb pro Nasenöffnung 1 ml versprüht wurde. Die intranasale Impfung wurde je nach Versuchsgruppe ein-, zwei- oder dreimal pro Tier angewendet. Die erste Impfung erfolgte entweder: a) am 1.Lebenstag, b) in der 3.Lebenswoche oder c) im 6.Lebensmonat. (Der Applikationsmodus ist im Einzelnen im Kapitel Ergebnisse beschrieben).

3.1.4. Antikörpernachweis

3.1.4.1. Probenentnahme

Der Antikörpernachweis erfolgte im Nasensekret. Zur Entnahme des Sekretes wurden die Nasenschleimhäute mit einem ca. 2x1x1 cm großen Schwämmchen sorgfältig abgewischt. Anschließend wurde das Schwämmchen mit Hilfe einer Spritze ausgepresst. Auf diese Weise konnten pro Tier etwa 1 bis 2 ml Nasensekret gewonnen werden. Das Sekret wurde nach der Entnahme sofort bei -18°C bis zur Antikörper Bestimmung eingefroren.

3.1.4.2. ELISA

Der Antikörpernachweis gegen die sechs verschiedenen Impfstämme erfolgte mit dem ELISA. Als Antigen zur Plattenbeschichtung diente das Impfantigen, das zusätzlich durch eine kurzzeitige Zentrifugation (1000 UpM/3 Minuten) von groben Zellpartikeln gereinigt wurde. Die Antigengebrauchsverdünnung wurde in die Vertiefungen der Flachbodenplatten (M 199 A, Flow Laboratories) pipettiert. Die

Platten wurden anschließend mit Tesafilm (ScotchTM Pressure Sensitive Tape) verschlossen, 4 Stunden bei 37°C inkubiert und bis zur weiteren Verwendung bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt.

Nach dreimaligem Waschen der Platten mit NaCl-Phosphat-Puffer plus Tween (8 g NaCl + 0,2 g KH_2PO_4 + 2,9 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{ H}_2\text{O}$ + 0,2 g KCl pro 1 l Aqua dest. + 0,05% Tween 20) konnten die Vertiefungen der Platten mit je 0,1 ml der in Zweierstufen mit NaCl-Phosphat-Puffer + Tween verdünnten Nasensekretproben beschichtet werden. Zur Kontrolle liefen jeweils ein positives und negatives Immuns serum mit. Nach einstündiger Bebrütung bei 37°C wurden die Platten viermal gewaschen und je 0,1 ml der Gebrauchsverdünnung (1:1000 in NaCl-Phosphat-Puffer + 5% foetales Kälberserum) des tierart-spezifischen Konjugates (Anti-Bovine Peroxidase-Immunoconjugate der Fa. Nordic) dazugegeben.

Nach erneuter einstündiger Bebrütung bei 37°C und anschließendem viermaligem Waschen erfolgte die Zugabe von je 0,1 ml Substrat (0,5 g Orthophenyldiamine d. Fa. Sigma + 4,67 g Zitronensäure + 9,15 g Na_2HPO_4 ad 1 l Aqua dest., kurz vor Gebrauch Zugabe von 0,005% H_2O_2). Die Platten wurden dann etwa 10 Minuten lang auf einem Mikroschaker (Dynatech) geschüttelt und bis zur Ablesung bei 510 nm im Photometer (Titertek Multiscan, Flow Laboratories) eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Als positiv galten Verdünnungsstufen, bei denen der Extinktionswert mindestens doppelt so hoch lag wie der bei nicht geimpften, gesunden Kälbern.

3.1.5. Klinische Prüfung

Zur Beurteilung der Morbiditätsrate wurden 420 Kälber und Jungrinder aus Zuchtbetrieben zwischen November 1986 und Januar 1987 herangezogen. Zu den 99 Kälbern, bei denen eine Antikörper-Titer Bestimmung nach den Impfungen durchgeführt wurde, kamen noch zusätzlich für die klinische Prüfung weitere 58 Kälber mit Impfung am 1. und 10. Lebens- tag ohne Entnahme von Nasenschleimproben. 263 nicht geimpfte Tiere wurden den insgesamt 157 Impflingen gegenübergestellt.

Als krank galten Kälber, die folgende Symptome zeigten: gestörtes Allgemeinbefinden mit Apathie und Anorexie, Temperaturerhöhung über 39,5°C, pathologische Lungengeräusche, erhöhte Atemfre- quenz, Husten und Nasenausfluß.

Die Überwachung wurde gewährleistet durch Mel- dungen des Tierbesitzers, sowie durch eigene Be- obachtungen bei der Versuchsdurchführung und während der Praxisarbeit als betreuender Tier- arzt der Versuchsbetriebe.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Antikörpernachweis

Für die lokale Antikörper-Titer Bestimmung wurden unterschiedliche Kälberkollektive an verschiedenen Lebenstagen mit einer polyvalenten Pasteurella-Vaccine intranasal geimpft und vor sowie zu verschiedenen Zeiten nach der Impfung der Antikörpergehalt im Nasenschleim gegen die sechs verschiedenen Impfantigene mit dem ELISA bestimmt. In Tabelle 1 und in Abbildung 1 sind die Ergebnisse einer Versuchsgruppe zusammengestellt, die am 1. und 7. Lebenstag immunisiert und bei der am 1., 7. und 21. Lebenstag der lokale Antikörpergehalt im Nasenschleim untersucht wurde.

Kälber, die einmalig am 1. Lebenstag geimpft worden waren, hatten am 7. Lebenstag keine oder nur unbedeutende (Titer $\leq 1:2$ bei P. multocida 7:A und 4:D) Antikörper-Aktivitäten im Nasenschleim. Erst eine zweite Impfung am 7. Lebenstag stimulierte vor allem gegen P. multocida einen deutlichen Antikörperanstieg. Am 21. Lebenstag wiesen die zweimal geimpften Kälber mittlere lokale Antikörper-Titer gegen die P. multocida-Antigene von 1:9 bis 1:17 und gegen die P. haemolytica-Antigene von 1:2,9 bzw. 1:3,4 auf. Die mittleren Antikörper-Titer fielen deshalb zum Teil so niedrig aus, weil ein Teil der Kälber nicht auf die Impfung mit einer Immunantwort reagierte. Der Prozentsatz der Kälber mit einem Antikörperanstieg schwankte nach der Erstimpfung zwischen 0 und 29% und nach der

Zweitimpfung zwischen 28% und 71%.

Zum Vergleich wurde eine zweite Versuchsgruppe am 1., 10. und 85. Lebenstag intranasal mit der Pasteurella-Vaccine immunisiert. Die mittleren Antikörper-Titer am 1., 10., 18., 85. und 105. Lebenstag sind in Tabelle 2 und zusätzlich graphisch in Abbildung 2 zusammengestellt.

Am 1. Lebenstag waren die Nasenschleimproben der Kälber negativ. 10 Tage nach der ersten Impfung wiesen die Tiere bereits schwache mittlere Antikörper-Titer zwischen 1:2,3 und 1:4,0 gegen *P. multocida*-Antigene auf. Die *P. haemolytica* Antikörper-Titer lagen zu diesem Zeitpunkt noch unter 1:2. Die Zweitimpfung am 10. Lebenstag führte nur zu einem unwesentlichen Boostereffekt. Die mittleren Antikörper-Titer bewegten sich bei *P. multocida* zwischen 1:3,2 und 1:6,6 und lagen bei *P. haemolytica* bei 1:2,1 bzw. 1:2,5. Deutliche Antikörper-Titer ließen sich in dieser Versuchsgruppe erst im 3. Lebensmonat nachweisen, die wahrscheinlich auf eine natürliche Auseinandersetzung der Impflinge mit Pasteurella-Keimen zurückzuführen waren. Die höchsten mittleren Antikörper-Titer (1:22 bzw. 1:27) konnten gegen *P. haemolytica* A₁ und *P. multocida* 4:D gemessen werden. Eine dritte Impfung in diesem Lebensalter blieb ohne Wirkung. Die mittleren Antikörper-Titer lagen 10 Tage nach der dritten Impfung auf dem gleichen Niveau wie vor der Impfung. Auch in dieser Gruppe war keine einheitliche Reaktion der Impflinge gewährleistet. Der Prozentsatz der Tiere, die Antikörperreaktionen

zeigten, schwankte nach der Erstimpfung zwischen 33% und 50%, nach der Zweitimpfung zwischen 42% und 50% und nach der Drittimpfung zwischen 58% und 75%.

Die Ergebnisse der Antikörperbestimmung (1., 14., 21. und 90.Lebenstag) bei einer Kälbergruppe, die am 1. und 14.Lebenstag intranasal immunisiert wurde, zeigt Tabelle 3 und graphisch veranschaulicht Abbildung 3. Die Antikörperreaktionen 14 Tage post vaccinationem waren bei diesen Kälbern relativ uneinheitlich. Während im Falle von *P.multocida* 7:A (Titer 1:26), 4:D (1:11) und 6:E (1:19) sowie *P.haemolytica* A₂ (1:6) die bisher höchsten mittleren Antikörper-Titer nach einmaliger Impfung gemessen wurden, blieben die Titer gegen *P.multocida* 11:B und *P.haemolytica* A₁ praktisch im negativen Bereich (Titer < 1:2). Die Zweitimpfung am 14.Lebenstag führte bei den *P.multocida*-Antigenen zu einer weiteren Steigerung der mittleren Antikörper-Titer. Die höchsten Werte wiesen *P.multocida* 7:A (1:35) und *P.multocida* 6:E (1:28) und mit Einschränkung *P.multocida* 4:D (1:15) auf. Bei *P.multocida* 11:B stiegen die Titer von unter 1:2 auf 1:2,3 an. Bei den *P.haemolytica*-Antigenen blieb dagegen eine Boosterreaktion aus. Die Untersuchungen am 90.Lebenstag brachten ebenfalls ganz unterschiedliche Ergebnisse bei den sechs Antigenen. Die mittleren Antikörper-Titer gegen *P.multocida* 4:D, *P.haemolytica* A₁ und A₂ stiegen stark an, was darauf hindeutet, daß sich die Kälber mit *Pasteurella*-Stämmen dieser Serotypen aktiv auseinandersetzten. Dies wird auch durch die Tatsache

bestätigt, daß die Antikörper-Titer gegenüber den anderen Antigenen deutlich abfielen. Dieser Applikationsmodus 1. und 14. Lebenstag hatte, mit Ausnahme von *P. multocida* 11:B und *P. haemolytica* A₁, den höchsten Prozentsatz an Reagenten (bis 71% nach der Erst- und bis 100% nach der Zweitimpfung) zur Folge. Warum in dieser Gruppe nur wenige Kälber gegen das *P. multocida*-Antigen 11:B und das *P. haemolytica*-Antigen A₁ reagierten, ist aus den Ergebnissen nicht ersichtlich.

Als letztes Immunisierungsschema dieser Versuchsreihe prüften wir die zweimalige intranasale Impfung am 1. und 21. Lebenstag. Die Antikörperbestimmungen erfolgten am 1., 21., 28. und 35. Lebenstag (vgl. Tabelle 4 und Abbildung 4). Wie aus der Tabelle ersichtlich wird, wiesen alle Nasenschleimproben am 1. Lebenstag keine spezifischen Antikörperaktivitäten auf. Am 21. Lebenstag waren bei allen Antigenen positive Antikörper-Titer festzustellen. Auch in dieser Gruppe waren die mittleren Antikörper-Titer gegen *P. multocida* 7:A (1:19) und 4:D (1:22) sowie *P. haemolytica* A₂ (1:21) am höchsten. Wesentlich niedriger lagen die Titer bei *P. multocida* 11:B (1:3,2) und 6:E (1:2,8) sowie *P. haemolytica* A₁ (1:8,4). Die mittleren Antikörper-Titer stiegen, mit Ausnahme von *P. multocida* 11:B, gleichmäßig bis zum 35. Lebenstag an. Sie erreichten an diesem Tag Höchstwerte zwischen 1:29 und 1:54. Nur gegen *P. multocida* 11:B waren am 35. Lebenstag keine spezifischen Antikörperaktivitäten im Nasenschleim nachzuweisen. Der Prozentsatz der Kälber mit einer Antikörper-

reaktion lag etwas höher als bei den bisherigen Befunden. Am Besten schnitt nach der Erstimpfung das P.haemolytica A₁-Antigen mit einem Prozentsatz von 80 ab und nach der Zweitimpfung P.multocida 6:E und P.haemolytica A₂ mit je 100%.

In einer zweiten Versuchsreihe wurden Kälber am 21., 31. und 105.Lebenstag intranasal mit der polyvalenten Pasteurella-Vaccine immunisiert und die Antikörperaktivitäten am 21., 31., 39., 105. und 115.Lebenstag mit dem ELISA bestimmt. Wie aus Tabelle 5 bzw. Abbildung 5 ersichtlich wird, wies ein Teil der Kälber bereits vor der 1.Impfung spezifische Antikörperaktivitäten gegen die Pasteurella-Antigene im Nasenschleim auf. Die höchsten mittleren Antikörper-Titer (ca. 1:10) traten gegenüber P.multocida 4:D und P.haemolytica A₁ auf. Bei den anderen Antigenen bewegten sich die Titer zwischen 1:2,7 und 1:4,8. 10 Tage nach der ersten Impfung persistierten die Titer bei allen Antigenen, mit Ausnahme von P.multocida 4:D und P.haemolytica A₁, auf dem gleichen Niveau. Erst nach der Boosterimpfung am 31.Lebenstag stiegen die mittleren Antikörper-Titer deutlich an und zwar um das zwei- (P.multocida 11:B, 4:D, P.haemolytica A₂), drei- (P.multocida 7:A, 6:E) und vierfache (P.haemolytica A₁). Bis zum 105.Lebenstag war kein Anstieg der Antikörper-Titer mehr zu verzeichnen. 10 Tage nach der 3.Impfung stiegen dagegen die Titer wieder deutlich an. Der Prozentsatz der Kälber, die mit einer Antikörperbildung reagierten, lag bei P.multocida 4:D und P.haemolytica A₁ durchwegs bei 100%.

In Tabelle 6 und Abbildung 6 sind die Antikörperreaktionen von Jungrindern zusammengestellt, die zweimal im Abstand von 10 Tagen intranasal immunisiert wurden. Die mittleren Antikörper-Titer lagen bei allen Antigenen auf einem relativ hohen Niveau zwischen 1:29 und 1:152. 10 Tage nach der ersten Impfung stiegen die Antikörper-Titer im Durchschnitt bei allen Antigenen um das Zweifache an. Die zweite Impfung hatte dagegen keine weiteren Erhöhungen der spezifischen Antikörperaktivitäten zur Folge. Der Prozentsatz der Jungrinder, die auf die Erstimpfung reagierten, lag bei 100%.

3.2.2. Klinische Prüfung

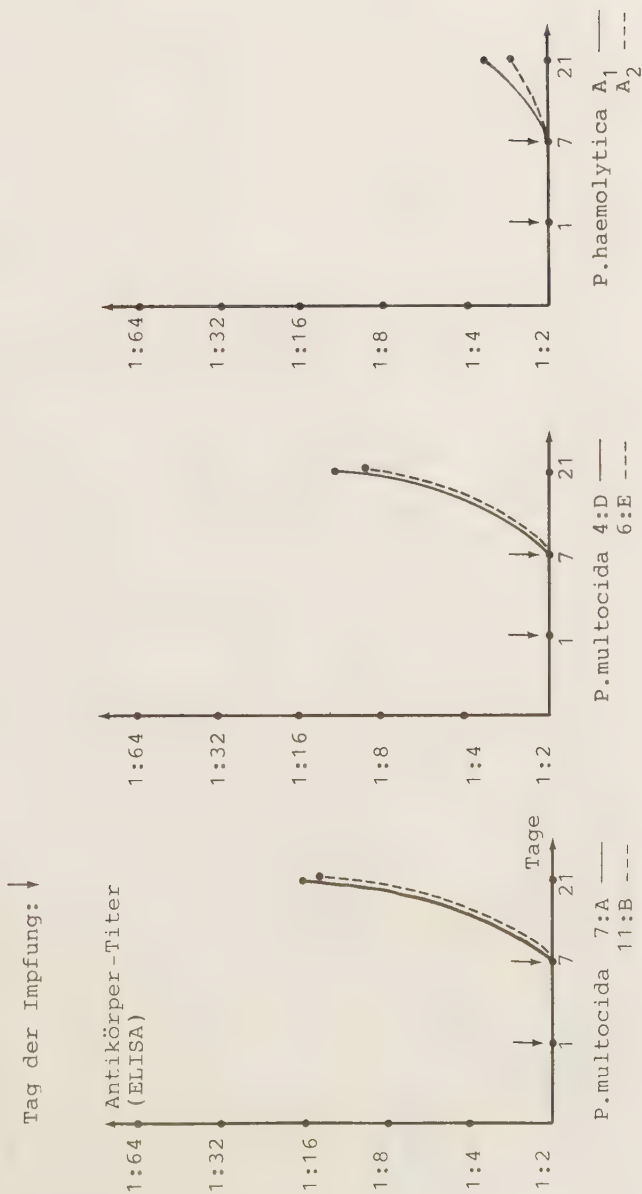
In die klinische Prüfung wurden insgesamt 420 Kälber und Jungrinder aus 26 Zuchtbetrieben einbezogen. Von diesen Tieren wurden 157 zwei- bzw. dreimal mit der polyvalenten Pasteurella-Vaccine intranasal immunisiert und 263 Tiere blieben als Kontrollen ungeimpft. Bei keinem der geimpften Tiere traten postvaccinale Impfreaktionen auf. Die Ergebnisse der klinischen Prüfung sind in Tabelle 7 zusammengefaßt. Von den 157 geimpften Kälbern erkrankten im Beobachtungszeitraum nur 6,3% an respiratorischen Erkrankungen. Von den Kontrolltieren hatten im gleichen Zeitraum 50,9% grippeähnliche Erkrankungen. Auch die Verlaufsform war bei den Kontrolltieren wesentlich schwerer als bei den Impflingen. Die Kontrolltiere entwickelten in der Regel schwere Bronchopneumonien mit hohem Fieber, Inappetenz und purulentem Nasenausfluß, während die erkrankten Impflinge weniger ausgeprägte Symptome zeigten. Die Futteraufnahme war bei den Impflingen nur kurzzeitig vermindert und der Nasenausfluß blieb serös.

Tab. 1: Mittlerer Antikörper-Titer gegen thermostabile Pasteurella multocida-/haemolytica-Antigene bei Nasenschleimproben von Kälbern, die mit einer polyvalenten Pasteurella-Vaccine am 1. und 7. Lebenstag intranasal immunisiert wurden. (vgl. Abb. 1)

Impfstamm (Antigen)		Mittlerer Antikörper-Titer 1)			Prozentsatz der Kälber mit einem Antikörper-Titer Anstieg
		vor und an verschiedenen Tagen nach der Impfung			
P. multocida	7:A	vor der 1. Impfung 1. Lebenstag	7 Tage nach der 1. Impfung 7. Lebenstag	14 Tage nach der 2. Impfung 21. Lebenstag	
		neg.	<1:2	1:17	29% ²⁾ 71% ³⁾
	11:B	neg.	neg.	1:15	-- 57%
	4:D	neg.	<1:2	1:13	14% 71%
	6:E	neg.	neg.	1:9	-- 57%
P. haemolytica	A ₁	neg.	neg.	1:3,4	-- 43%
	A ₂	neg.	neg.	1:2,9	-- 28%

1) arithmetisches Mittel (n=7)
 2) 7 Tage nach der Erstimpfung
 3) 14 Tage nach der Zweitimpfung

Abb.1: Graphische Darstellung der Antikörperkinetik von Nasenschleimproben bei Kälbern, die am 1. und 7. Lebenstag mit einer polyvalenten Pasteurella-Vaccine intranasal immunisiert wurden. (vgl. Tab.1)

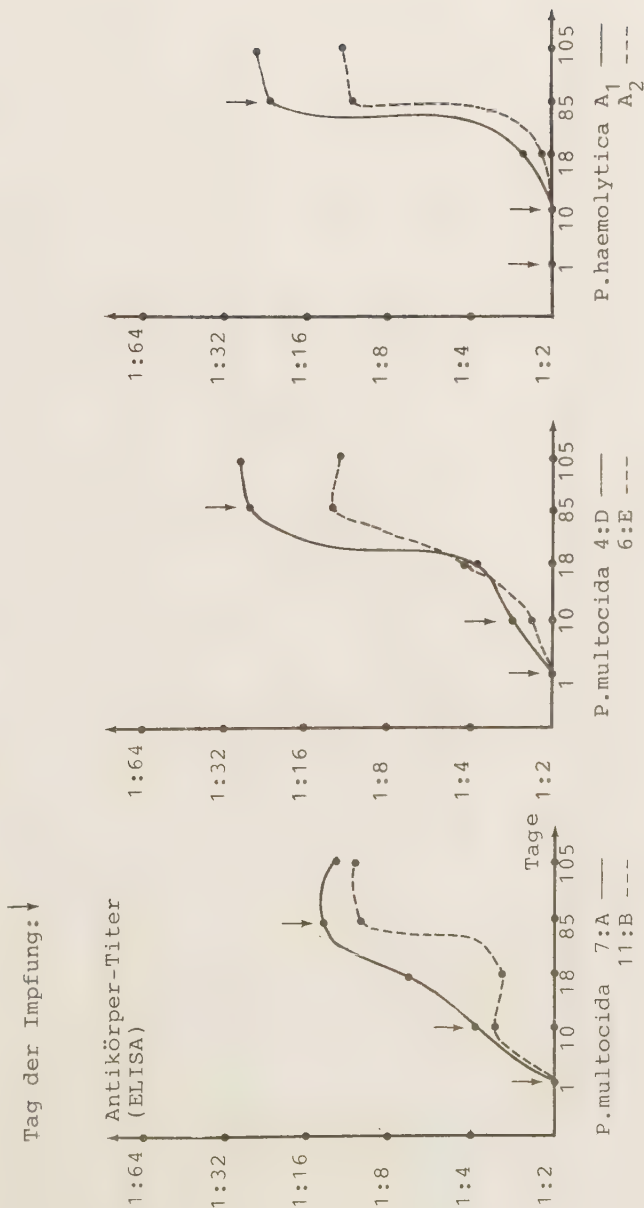


Tab. 2: Mittlerer Antikörper-Titer gegen thermostabile *Pasteurella multocida*-/haemolytica-Antigene bei Nasenschleimproben von Kälbern, die mit einer polyvalenten *Pasteurella-Vaccine* am 1., 10. und 85. Lebenstag intranasal immunisiert wurden. (vgl. Abb. 2)

Impfstamm (Antigen)	Mittlerer Antikörper-Titer 1)						Prozentsatz der Kälber mit einem Antikörper-Titer Anstieg
	vor und an verschiedenen Tagen nach der Impfung	vor der 1. Impfung 1. Lebens- tag	10 Tage nach der 1. Impfung 10. Le- benstag	8 Tage nach der 2. Impfung 18. Le- benstag	75 Tage nach der 2. Impfung 85. Le- benstag	20 Tage nach der 3. Impfung 105. Le- benstag	
P. multo- cida	7:A	neg.	1:4	1:6,6	1:16	1:13	33% ²⁾ 50% ³⁾ 58% ⁴⁾
	11:B	neg.	1:3,5	1:3,2	1:10	1:11	42% 50% 58%
	4:D	neg.	1:2,8	1:3,7	1:27	1:28	42% 50% 75%
	6:E	neg.	1:2,3	1:4,1	1:14	1:13	50% 50% 67%
P. haemo- lytica	A ₁	neg.	<1:2	1:2,5	1:22	1:25	42% 42% 75%
	A ₂	neg.	<1:2	1:2,1	1:12	1:13	42% 42% 75%

- 1) arithmetisches Mittel (n=12)
 2) 8 Tage nach der Erstimpfung
 3) 75 Tage nach der Zweitimpfung
 4) 20 Tage nach der Drittimpfung

Abb.2: Graphische Darstellung der Antikörperkinetik von Nasenschleimproben bei Kälbern, die am 1., 10 und 85. Lebenstag mit einer polyvalenten Pasteurella-Vaccine intra-nasal immunisiert wurden. (vgl. Tab.2)

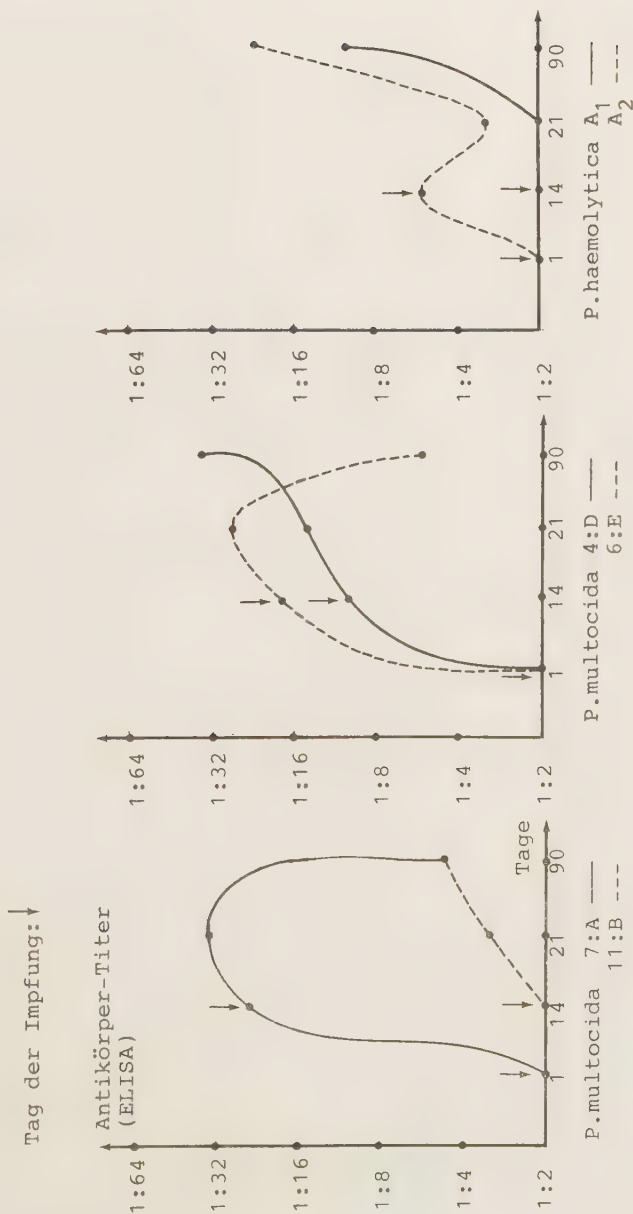


Tab. 3: Mittlerer Antikörper-Titer gegen thermostabile Pasteurella multocida-/haemolytica-Antigene bei Nasenschleimproben von Kälbern, die mit einer polyvalenten Pasteurella-Vaccine am 1. und 14. Lebenstag intranasal immunisiert wurden. (vgl. Abb. 3)

Impfstamm (Antigen)	Mittlerer Antikörper-Titer vor und an verschiedenen Tagen nach der Impfung					Prozentsatz der Kälber mit einem Antikörper-Titer Anstieg	
	vor der 1. Impfung 1. Lebenstag	14 Tage nach der 1. Impfung 14. Lebens- tag	7 Tage nach der 2. Impfung 21. Lebens- tag	76 Tage nach der 2. Impfung 90. Lebens- tag			
P. multo- cida	7:A	neg.	1:26	1:35	1:5,1	71% ²⁾	100% ³⁾
	11:B	neg.	<1:2	1:2,3	1:5,1	29%	71%
	4:D	neg.	1:11	1:15	1:39	58%	86%
	6:E	neg.	1:19	1:28	1:5,7	71%	100%
P. haemo- lytica	A ₁	neg.	<1:2	<1:2	1:11	29%	29%
	A ₂	neg.	1:6	1:3,1	1:24	43%	43%

- 1) arithmetisches Mittel (n=7)
- 2) 14 Tage nach der Erstimpfung
- 3) 7 Tage nach der Zweitimpfung

Abb.3: Graphische Darstellung der Antikörperkinetik von Nasenschleimproben bei Kälbern, die am 1. und 14. Lebenstag mit einer polyvalenten Pasteurella-Vaccine intranasal immunisiert wurden. (vgl. Tab.2)

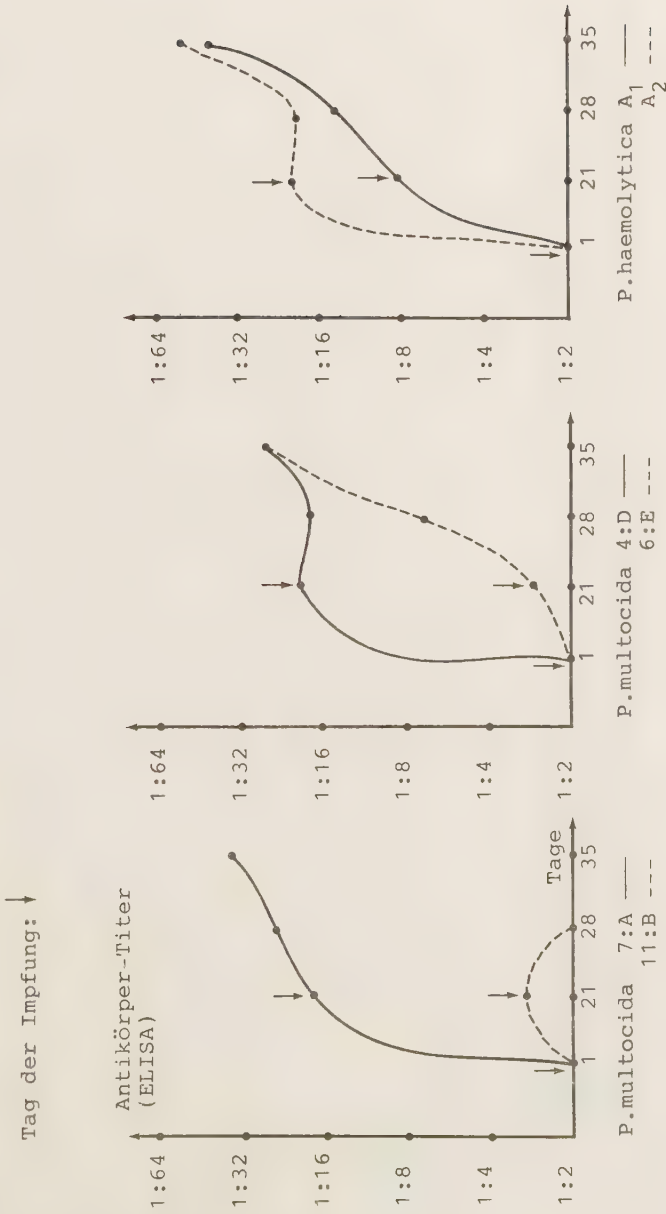


Tab. 4: Mittlerer Antikörper-Titer gegen thermostabile Pasteurella multocida-/haemolytica-Antigene bei Nasenschleimproben von Kälbern, die mit einer polyvalenten Pasteurella-Vaccine am 1. und 21.Lebenstag intranasal immunisiert wurden. (vgl.Abb.4)

Impfstamm (Antigen)	Mittlerer Antikörper-Titer vor und an verschiedenen Tagen nach der Impfung				Prozentsatz der Kälber mit einem Antikörper-Titer Anstieg
	vor der 1. Impfung 1. Lebensstag	21 Tage nach der 1. Impfung 21. Lebens- tag	7 Tage nach der 2. Impfung 28. Lebens- tag	14 Tage nach der 2. Impfung 35. Lebens- tag	
P. multocida	7:A	neg.	1:19	1:26	40% ²⁾
	11:B	neg.	1:3,2	neg.	20%
	4:D	neg.	1:22	1:19	60%
	6:E	neg.	1:2,8	1:7,6	60%
P. haemolytica	A ₁	neg.	1:8,4	1:14	80%
	A ₂	neg.	1:21	1:20	60%

- 1) arithmetisches Mittel (n=5)
 2) 21 Tage nach der Erstimpfung
 3) 14 Tage nach der Zweitimpfung

Abb.4: Graphische Darstellung der Antikörperkinetik von Nasenschleimproben bei Kälbern, die am 1. und 21. Lebenstag mit einer polyvalenten Pasteurella-Vaccine intranasal immunisiert wurden. (vgl. Tab.4)

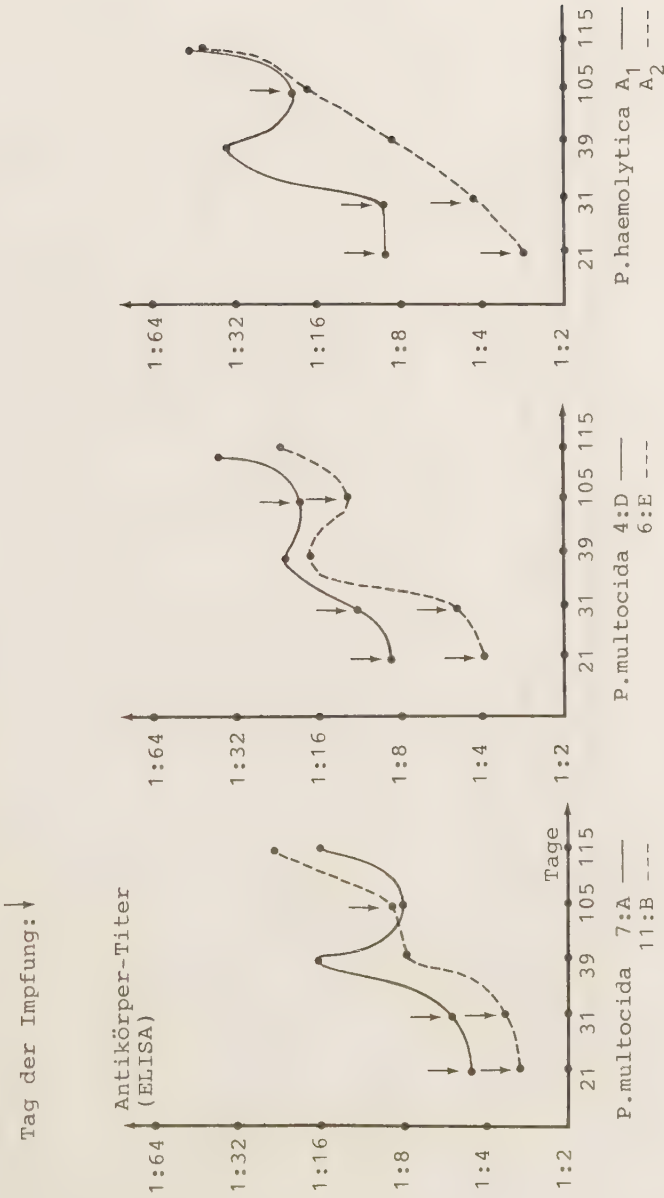


Tab. 5: Mittlerer Antikörper-Titer gegen thermostabile Pasteurella multocida-/haemolytica-Antigene bei Nasenschleimproben von Kälbern, die mit einer polyvalenten Pasteurella-Vaccine am 21., 31. und 105. Lebenstag intranasal immunisiert wurden. (vgl. Abb. 5)

Impfstamm (Antigen)	Mittlerer Antikörper-Titer vor und an verschiedenen Tagen nach der Impfung						1)			Prozentsatz der Kälber mit einem Antikörper-Titer Anstieg
	vor der 1. Impfung 21. Le- benstag	10 Tage nach der 1. Impfung 31. Le- benstag	8 Tage nach der 2. Impfung 39. Le- benstag	74 Tage nach der 2. Impfung 105. Le- benstag	10 Tage nach der 3. Impfung 115. Le- benstag					
P. multo- cida	7:A	1:4,8	1:5,5	1:18	1:8,3	1:18	63% ²⁾	100% ³⁾	100% ⁴⁾	
	11:B	1:2,7	1:3,3	1:8	1:9	1:27	88%	100%	100%	
	4:D	1:9,7	1:13	1:24	1:22	1:42	100%	100%	100%	
	6:E	1:4	1:5,3	1:17,5	1:14	1:27	75%	100%	100%	
P. haemo- lytica	A ₁	1:10	1:10	1:37	1:22	1:49	100%	100%	100%	
	A ₂	1:2,7	1:4,5	1:8,5	1:19	1:45	75%	100%	100%	

- 1) arithmetisches Mittel (n=8)
2) 10 Tage nach der Erstimpfung
3) 8 Tage nach der Zweitimpfung
4) 10 Tage nach der Drittimpfung

Abb.5: Graphische Darstellung der Antikörperkinetik von Nasenschleimproben bei Kälbern, die am 21., 31 und 105. Lebenstag mit einer polyvalenten Pasteurella-Vaccine intranasal immunisiert wurden. (vgl. Tab.5)



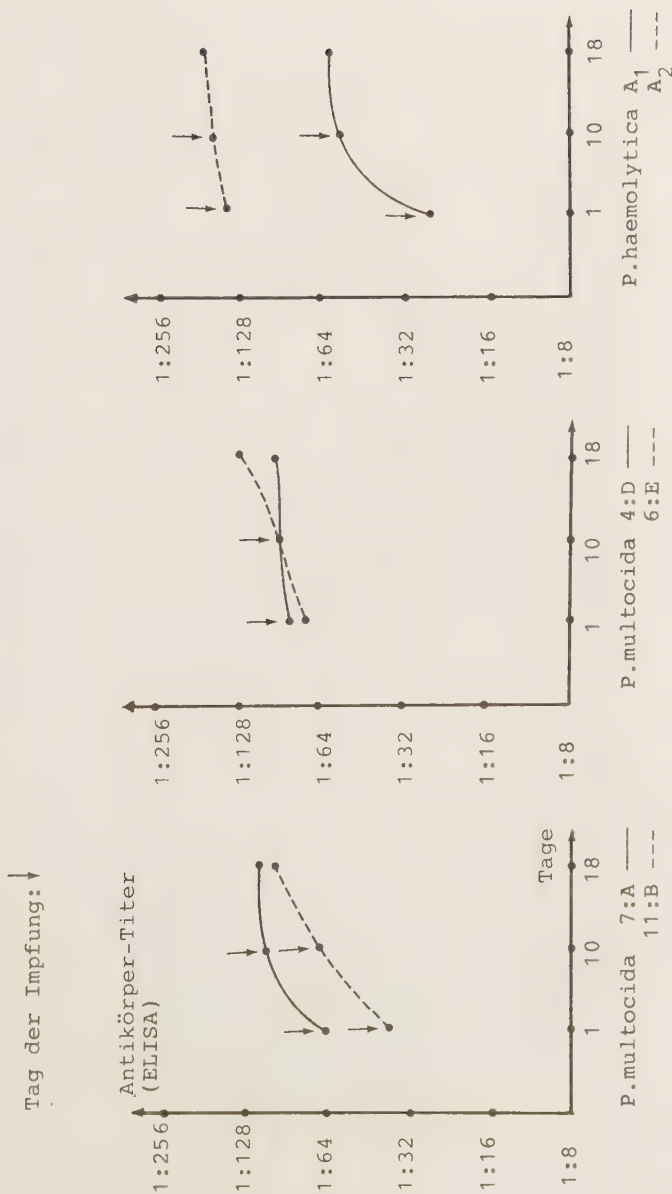
Tab. 6: Mittlerer Antikörper-Titer gegen thermostabile Pasteurella multocida-/haemolytica-Antigene bei Nasenschleimproben von Junggrindern, die mit einer polyvalenten Pasteurella-Vaccine im 6.Lebensmonat zweimal im Abstand von 10 Tagen intranasal immunisiert wurden. (vgl.Abb.6)

Impfstamm (Antigen)	Mittlerer Antikörper-Titer			Prozentsatz der Junggrinder mit einem Antikörper- Titer Anstieg
	vor und an verschiedenen Tagen nach der Impfung	10 Tage nach der 1. Impfung 6. Lebensmonat	8 Tage nach der 2. Impfung 6. Lebensmonat	
P. multocida	7:A	1:66	1:122	100% 2)
	11:B	1:40	1:72	100%
	4:D	1:89	1:105	100%
	6:E	1:79	1:109	100%
P. haemolytica	A ₁	1:29	1:65	100%
	A ₂	1:152	1:190	100%

1) arithmetisches Mittel (n=8)

2) nach der Erstimpfung

Abb. 6: Graphische Darstellung der Antikörperkinetik von Nasenschleimproben bei Jung-
rindern, die im 6. Lebensmonat zweimal im Abstand von 10 Tagen mit einer poly-
valenten Pasteurella-Vaccine intranasal immunisiert wurden. (vgl. Tab. 6)



Tab. 7: Vergleich der Morbiditätsrate zwischen den mit einer polyvalenten Pasteurella-Vaccine intranasal geimpften und nicht geimpften Kälbern und Junggrindern aus 26 Zuchtbetrieben.

Status der Tiere	Anzahl der erfaßten Tiere	Anzahl der Tiere mit respiratorischen Erkrankungen	Morbiditäts- rate 2)
Kontrolltiere	263	134	50,9%
Impflinge 1)	157	10	6,3%

1) Zwei- bzw. dreimalige Impfung

2) Beobachtungszeitraum sechs Monate nach der 1. Impfung

4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die Untersuchungen beweisen, daß die intranasale Impfung mit einem polyvalenten Pasteurella-Impfstoff aus hitzeinaktivierten Keimen bei Kälbern zu einer erhöhten Antikörperaktivität im Nasenschleim führt und zwar sowohl bei neugeborenen als auch bei älteren Tieren. Die beschriebenen Antikörper-Titer Anstiege bewegten sich im allgemeinen innerhalb einer relativ begrenzten Bandbreite. Man darf aber bei der Bewertung nicht übersehen, daß es sich hier um den Nachweis lokaler Antikörperreaktionen handelt, die generell schwächer ausfallen als humorale Antikörperreaktionen (Allen u. Porter, 1975; La Brooy et al., 1980; Schmidberger, 1983). Die festgestellten Antikörperanstiege sollen auch nicht als Gradmesser des Infektionsschutzes angesehen werden, denn dazu hätten entsprechende Infektionsversuche parallel durchgeführt werden müssen, sondern als Indikator für ein stattgehabtes Auseinandersetzen des Impflings mit dem Impfantigen.

Für den Antikörpernachweis fand der ELISA Verwendung (Burrells et al., 1983; Briggs u. Skeeles, 1984; Mosier et al., 1986). Als Testantigen dienten die Impfantigene, d.h. es wurden die spezifischen Antikörper gegen die thermostabilen Antigene der Pasteurellen gemessen. Bei diesen Antigenen handelt es sich vor allem um die Polysaccharide der Kapsel und Zellwand (Carter, 1981). Aufgrund unserer Untersuchungen läßt sich aber nicht sagen, gegen welches der Pasteurella-

Antigene die nachgewiesenen Antikörper gerichtet sind. Die Tatsache, daß wir bei den älteren Kontrolltieren positive Reaktionen gegen das Vollantigen des *P.multocida* 6:E-Stammes nachweisen konnten, läßt vermuten, daß sicher auch das somatische Antigen an der Reaktion beteiligt ist, da *P.multocida*-Stämme vom Kapseltyp E in Europa nur sehr selten vorkommen (Blobel et al., 1985), dafür aber umso häufiger *P.multocida*-Stämme mit dem somatischen Antigen 6 (Carter, 1981). Die Frage, ob es sich bei den Kapselantigenen oder bei dem somatischen Antigen um die protektiven Antigene handelt, ist noch umstritten (Kodama et al., 1980; Erlor et al., 1983; Adlam et al., 1984; Ames et al., 1985; Blobel et al., 1985; Lessley et al., 1985). Deshalb wurde auch auf eine separate Testung der einzelnen Antigene verzichtet. Wir wissen aber aus den vorliegenden und aus früheren Untersuchungen, daß Kälber, die mit der hier verwendeten polyvalenten *Pasteurella*-Vaccine geimpft wurden, gegen eine *Pasteurella*-Infektion geschützt sind (Waldner, 1982; Zangerle, 1982; Waldner, 1984). Diese Erfahrungen stammen aus Feldversuchen. Da sich Kälber experimentell nicht, bzw. nur nach immunsuppressiver Vorbehandlung oder auf künstlichem Infektionsweg mit *Pasteurellen* infizieren lassen, muß man bei der Wirksamkeitsbestimmung für *Pasteurella*-Impfstoffe auf den Feldversuch zurückgreifen (Jericho u. Langford, 1978; Gilmour et al., 1982; Jericho et al., 1982; Kielstein u. Schimmel, 1982; Yates, 1982; Gibbs et al., 1984; Jericho u. Carter, 1985).

Bei den nachgewiesenen Antikörpern wurde nicht die Immunglobulinklasse bestimmt, da die Gewinnung des Nasenschleims relativ schwierig war und deshalb nur in geringer Menge für die Antikörperuntersuchung zur Verfügung stand. Die Untersuchungen konzentrierten sich auf den Vergleich der Antikörperreaktion bei den sechs, in der polyvalenten Vaccine enthaltenen Pasteurella-Antigenen. Die Ergebnisse beweisen, daß die Kälber auf alle sechs Antigene gleichzeitig immunologisch reagieren können. Damit gilt für die intranasale Impfung die gleiche Gesetzmäßigkeit wie für die orale Impfung. Aus den Untersuchungen von Baljer (1979) und Jacobi (1979) wissen wir, daß Kälber erfolgreich oral mit polyvalenten E.coli-Impfstoffen aus thermoinaktivierten Keimen von bis zu sechs verschiedenen Serotypen immunisiert werden können.

Bei der Serotypenvielfalt der weltweit bei der enzootischen Bronchopneumonie der Kälber auftretenden Pasteurella-Stämme ist die Verwendung eines polyvalenten Pasteurella-Impfstoffes unumgänglich (Carter, 1981; Fraser et al., 1982; Yates, 1982; Gibbs et al., 1984; Cameron u. Bester, 1986). Die bei dem hier getesteten Impfstoff getroffene Antigenauswahl hat sich in der BRD (Waldner, 1982; Zangerle, 1982; Waldner, 1984) und in Österreich (Baljer, 1987) bewährt.

Eine parenteral zu verabreichende Pasteurella-Vaccine derselben Zusammensetzung wäre wegen der Gefahr von Impfreaktionen kaum denkbar. Der

notwendige hohe Antigengehalt würde, wie frühere Erfahrungen beweisen (zit. n. Chorherr, 1974), ein zu hohes Risiko postvaccinaler Schockreaktionen in sich bergen. Mit dem hier geprüften Pasteurella-Sechsfachimpfstoff kam es nach intranasaler Applikation weder bei neugeborenen Kälbern noch bei älteren Tieren zu Impfreaktionen.

Vergleichbare Antikörperuntersuchungen nach intranasaler Impfstoffapplikation liegen für Pasteurella-Antigene bisher nicht vor. Es gibt Ergebnisse über die humorale Antikörperreaktion nach parenteraler Impfung mit inaktivierten Pasteurella-Impfstoffen. Die dabei festgestellten postvaccinalen Antikörperreaktionen gegen somatische oder Kapselantigene korrelieren aber nicht mit dem Infektionsschutz. Dies dürfte wahrscheinlich darauf zurückzuführen sein, daß sich die Pasteurella-Infektion im Rahmen der enzootischen Bronchopneumonie vor allem an den Schleimhäuten des Respirationstrakts manifestiert. Systemische Pasteurella-Infektionen findet man dagegen bei der durch *P.multocida* (Kapseltyp "E") verursachten Wild- und Rinderseuche, die in Europa und USA keine Rolle spielt.

Gute Erfolge bei der enzootischen Bronchopneumonie der Kälber wurden mit einem parenteral verabreichten Lebendimpfstoff aus avirulenten *P.haemolytica*-Keimen erzielt (Earle, 1983). Bei Rindern, die einmal mit diesem Impfstoff intrakutan geimpft worden waren, konnte eine Korrelation zwischen dem postvaccinalen humoralen Antikörper-Titer

gegen ein Pasteurella-Cytotoxin und dem Schutz der Tiere nachgewiesen werden. Der Impfstoff führte aber bei Jungrindern zu Unverträglichkeitsreaktionen. Ein parenteral zu verabreichender Pasteurella-Impfstoff hätte auch den Nachteil, daß er bei Kälbern wegen Interferenz mit der passiven Immunität, nicht eingesetzt werden könnte. Die lokale Impfung hat diesen Nachteil nicht, wie Erfahrungen mit der oralen Immunisierung bei neugeborenen Ferkeln und Kälbern bewiesen haben (Baljer, 1979; Jacobi, 1979). Eine möglichst frühzeitige Impfung gegen die Pasteurellose ist vor allem in der Rinderhaltung wichtig, da die Pasteurella-Infektionen die Kälberaufzucht und Kälbermast belasten (Ungureanu et al., 1981). Neben der Stimulierung lokaler Abwehrvorgänge hat die intranasale Impfung auch den Vorteil, daß eine möglichst frühzeitige aktive Immunitätsbildung eintritt.

Bei den Untersuchungen fiel auf, daß einzelne der geimpften Kälber auf keines der Impfantigene reagierten. Die Ursache könnte auf eine fehlerhafte Impfstoffapplikation zurückzuführen sein, denn die intranasale Applikation stellt an den Tierarzt wesentlich höhere Anforderungen und ist auch schwer zu "standardisieren" im Vergleich zur parenteralen Applikation. Bei der intranasalen Applikation kann man nicht immer ausschließen, daß, vor allem bei Tieren mit starken Abwehrbewegungen, ein Teil des Impfstoffes aus der Nase läuft bzw. nicht genügend Impfantigen an den Nasen- und Rachenschleimhäuten bleibt. Durch einen entsprechend hohen Antigengehalt im Impfstoff läßt sich dieses Risiko erheblich verringern. Einzelne "Impfversager" sind aber nicht auszuschließen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Bei Kälbern und Jungrindern aus Rinderzuchtbetrieben im Allgäu wurde die Wirksamkeit einer intranasalen Schutzimpfung gegen Pasteurellen untersucht. Zur Immunisierung diente eine polyvalente Vaccine aus formalininaktivierten und autoklavierten Keimen von *Pasteurella multocida* 7:A, 11:B, 4:D, 6:E, und *Pasteurella haemolytica* A₁ und A₂.

Die Impfungen wurden bei drei Altersstufen (1. Lebenstag, 3. Lebenswoche, 6. Lebensmonat) durchgeführt. Die Wirksamkeitsbestimmung erfolgte a) durch den Nachweis postvaccinaler lokaler Antikörper im Nasenschleim und b) durch die klinische Prüfung.

Bei allen Altersgruppen konnte ein Antikörpertiter Anstieg nachgewiesen werden. Bei neugeborenen Kälbern stieg der mittlere Antikörpertiter nach zweimaliger Impfung von 0 auf maximal 1:54. 6 Monate alte Jungrinder reagierten auf die zweimalige intranasale Impfung mit einem mittleren Antikörpertiter Anstieg von 1:29 bis 1:152 vor der Impfung auf 1:65 bis 1:202 nach der Impfung.

Im Beobachtungszeitraum erkrankten von 263 Kontrollkälbern 134 Tiere (50.9%) und von 157 mit der polyvalenten *Pasteurella*-Vaccine geimpften Kälbern 10 Tiere (6,3%).

SUMMARY

INTRANASAL IMMUNIZATION AGAINST PASTEURELLOSIS IN CALVES: CLINICAL ANALYSIS AND PROOF OF ANTIBODIES IN NASAL MUCUS WITH THE ELISA

The effectiveness of an intranasal immunization against pasteurellosis has been tested in calves and sub-adult specimens of cattle from Allgaeu cattle-breeding farms. For the inoculation a polyvalent vaccine, consisting of formalin-inactivated and autoclaved bacterias of *Pasteurella multocida* 7:A, 11:B, 4:D, 6:E and *Pasteurella haemolytica* A₁ and A₂, have been used.

The immunization was carried out with three different age groups (neonate, 3 weeks and 6 months). Effectiveness was tested a) by evidence of local antibodies post vaccination in the nasal mucus and b) by clinical analysis.

A rise of antibody-titer could be proved in all three age groups. In neonate calves the antibody-titer on the average increased from 0 to 1:54 (maximum) after they had been inoculated twice. The 6 months old specimens' reaction to a one repeated intranasal inoculation was an average increase of the antibody titer from 1:29 - 1:152 before the immunization to 1:65 - 1:202 after the immunization.

134 specimens (=50,9%) out of the observed 263 calves showed clinical signs during the observation period; of the 157 specimens immunized with the polyvalent *Pasteurella*-vaccine only 10 animals (=6,3%) showed signs of pasteurellosis.

6. LITERATURVERZEICHNIS

Adlam, C., J.M. Knights, A. Mugridge, J.C. Lindon,
P.R.W. Baker, J.E. Beesley, B. Spacey, G.R. Craig,
L.K. Nagy, 1984:

Purification, characterization and immunological
properties of the serotype-specific capsular poly-
saccharide of *Pasteurella haemolytica* (serotype A₁)
organisms.

J. Med. Microbiol. 130, 2415.

Allen, W.D. u. P. Porter, 1975:

Lokalization of immunoglobulins in intestinal mucosa
and the production of secretory antibodies in response
to intraluminal administration of bacterial antigens
in the preruminant calf.

Clin. exp. Immunol. 21, 407.

Ames, T.R., R.J.F. Markham, J. Opuda-Asibo, J.R.
Leininger, S.K. Maheswaran, 1985:

Pulmonary response to intratracheal challenge with
Pasteurella haemolytica and *Pasteurella multocida*.

Can. J. comp. Med. 49, 395.

Baljer, G., 1979:

Untersuchungen über die Unschädlichkeit, Wirksam-
keit und Grenzen einer oralen Schutzimpfung mit
inaktivierten Bakterien bzw. Toxoiden gegen
bakterielle Krankheiten am Modell *Escherichia coli*,
Clostridium tetani und *novyi* und *Pasteurella*
multocida.

Vet. Med. Habil. Schrift München

Baljer, G., 1980:

Lokale Schutzimpfungen.

Prakt. Tierarzt 9, 722.

Baljer, G., S. Chorcherr, A. Mayr, 1982:

Wirksamkeit und Unschädlichkeit von Pasteurella multocida-Vaccinen aus inaktivierten Keimen nach subkutaner, oraler und intranasaler Applikation bei der Maus.

Zbl. Vet. Med. B 29, 275.

Baljer, G., 1987:

Persönliche Mitteilung.

Blobel, H., J. Brückler, K.K. Baxi, A. Amend, 1985:

Eigenschaften von Pasteurellen aus Atemwegserkrankungen vom Rind.

Tierärztl. Umschau 40, 860.

Briggs, D.J. u. J.K. Skeeles, 1984:

An enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibodies to Pasteurella multocida in chickens.

Avian Diseases 28, 208.

Burrells, C., H.B. Evans, A. McL. Dawson, 1983:

Antigenic relationships between the serotypes of Pasteurella haemolytica demonstrable by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Vet. Microbiol. 8, 187.

Cameron, C.M. u. F.J. Bester, 1986:

Preliminary report of a polyvalent Pasteurella-vaccine for cattle.

Proc. of XIII. World Congress on Diseases of Cattle, Durban, Republic of South Africa, p.298.

Carter, G.R., 1981:

Pasteurella

In: Blobel, H. u. Th. Schließer (Hrs):

Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren.

Bd.III Fischer Verlag Stuttgart

Carter, G.R. u. M.M. Chengappa, 1981:

Identification of types B and E *Pasteurella multocida* by counterimmunoelectrophoresis.

Vet. Rec. 108, 145.

Catt, D.M., M.M. Chengappa, W.L. Kadel, C.E.

Herren, 1985:

Preliminary studies with a live Streptomycin-dependent *Pasteurella multocida* and *Pasteurella haemolytica* vaccine for the prevention of bovine pneumonic pasteurellosis.

Can. J. comp. Med. 49, 366.

Chang, Y., H.W. Renshaw, J. Augustine, 1985:

Bovine pneumonic pasteurellosis: chemiluminescent response of bovine peripheral blood leukocytes to living and killed *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and *Escherichia coli*.

Am. J. Vet. Res. 46, 2266.

Cho, H.J., J.G. Bohac, W.D.G. Yates, H. Bielefeldt Ohmann, 1984:

Anticytotoxin activity of bovine sera and body fluids against *Pasteurella haemolytica* A₁ cytotoxin.

Can. J. comp. Med. 48, 151.

Chorherr, S., 1974:

Untersuchungen über eine Wärmeinaktivierung von Pasteurellen unter Erhalt der immunisierenden Eigenschaften.

Vet. Med. Diss. München

Confer, A.W., J.C. Wright, J.M. Cummins, R.J.

Panciera, R.E. Corstvet, 1983:

Use of a fluorometric immunoassay to determine antibody response to *Pasteurella haemolytica* in vaccinated and nonvaccinated feedlot cattle.

J. Clin. Microbiol. 18, 866.

Confer, A.W., B.A. Lessley, R.J. Panciera, R.W.

Fulton, J.A. Kreps, 1985:

Serum antibodies to antigens derived from a saline extract of *Pasteurella haemolytica*: correlation with resistance to experimental bovine pneumonic pasteurellosis.

Vet. Immunol. Immunopathol. 10, 265.

Confer, A.W., R.J. Panciera, R.W. Fulton, M.J.

Gentry, J.A. Rummage, 1985:

Effect of vaccination with live or killed *Pasteurella haemolytica* on resistance to experimental bovine pneumonic pasteurellosis.

Am. J. Vet. Res. 46, 342.

Donachie, W., C. Burrells, A.D. Sutherland, J.S.

Gilmour, N.J.L. Gilmour, 1986:

Immunity of specific pathogen-free lambs to challenge with an aerosol of *Pasteurella haemolytica* biotype A serotype 2. Pulmonary antibody and cell response to primary and secondary infections.

Vet. Immunol. Immunopathol. 11, 265.

Earle, G., 1983:

New shipping-fever vaccine may offer first good control.

Farm. J., MID, p.63.

Erler, W., W. Schönherr, P. Heilmann, P. Kielstein,
G. Müller, H. Feist, K.-D. Floßmann, 1983:

Zur immunogenen Wirkung von Extrakten aus *Pasteurella multocida* im Kalb gegen die *Pasteurella*-Infektion.

Mh. Vet. Med. 38, 87.

Fraser, J., N.J.L. Gilmour, S. Laird, W. Donachie,
1982:

Prevalence of *Pasteurella haemolytica* serotypes isolated from ovine pasteurellosis in Britain.

Vet. Rec. 110, 560.

Fraser, J., S. Laird, N.J.L. Gilmour, 1982:

A new serotype (biotype T) of *Pasteurella haemolytica*.

Res. Vet. Science 32, 127.

Friend, S.C.E., B.N. Wilkie, R.G. Thomson, D.A.
Barnum, 1977:

Bovine pneumonic pasteurellosis: experimental induction in vaccinated and nonvaccinated calves.

Can. J. comp. Med. 41, 77.

Gibbs, H.A., 1983:

Pneumonic pasteurellosis in housed, weaned, single suckled calves.

Vet. Rec. 110, 87.

Gibbs, H.A., E.M. Allan, A. Wiseman, I.E. Selman,
1984:

Experimental production of bovine pneumonic
pasteurellosis.

Res. Vet. Science 37, 154.

Gilmour, N.J.L., K.W. Angus, W. Donachie, J.
Fraser, 1982:

Experimental pneumonic pasteurellosis in sheep
and cattle.

Vet. Rec. 110, 406.

Jacobi, H., 1979:

Untersuchungen über die Wirksamkeit einer Coli-
Vaccine beim Kalb zur Prophylaxe der E.coli-
Infektion.

Vet. Med. Diss. Hannover

Jericho, K.W.F. u. E.V. Langford, 1978:

Pneumonia in calves produced with aerosols of
bovine Herpesvirus 1 and Pasteurella haemolytica.

Can. J. comp. Med. 42, 269.

Jericho, K.W.F. u. E.V. Langford, 1982:

Aerosol vaccination of calves with Pasteurella
haemolytica against experimental respiratory
disease.

Can. J. comp. Med. 46, 287.

Jericho, K.W.F., C.le Q. Darcel, E.V. Langford,
1982:

Respiratory disease in calves produced with aero-
sols of Parainfluenza-3 virus and Pasteurella
haemolytica.

Can. J. comp. Med. 46, 293.

Jericho, K.W.F. u. G.R. Carter, 1985:

Pneumonia in calves produced with aerosols of *Pasteurella multocida* alone and in combination with bovine Herpesvirus 1.
Can. J. comp. Med. 49, 138.

Jericho, K.W.F., H.J. Cho, W.D.G. Yates, G.C. Kozub, 1985:

Serum complement-fixing antibody to *Pasteurella haemolytica* A₁ and its effect on experimentally induced pneumonic pasteurellosis in calves.
Am. J. Vet. Res. 46, 2457.

Jordache, A. u. C. Ungureanu, 1981:

Research on the bacteriocinogen properties of *Pasteurella*.
Arch. exper. Vet. med. 35, 443.

Kielstein, P. u. D. Schimmel, 1983:

Durch Pasteurellen bedingte Pneumonien des Kalbes und Möglichkeiten ihrer experimentellen Übertragung.
Mh. Vet. Med. 38, 83.

Kodama, H., M. Matsumoto, L.M. Snow, 1981:

Immunogenicity of capsular antigens of *Pasteurella multocida* in turkeys.
Am. J. Vet. Res. 42, 1838.

Kucera, C.J., J.C.S. Wong, R.L. Eis, 1981:

Development of a chemically altered *Pasteurella multocida* vaccinal strain.
Am. J. Vet. Res. 42, 1389.

Kucera, C.J., J.C.S. Wong, T.J. Feldner, 1983:
Challenge exposure of cattle vaccinated with a
chemically altered strain of *Pasteurella haemo-*
lytica.
Am. J. Vet. Res. 44, 1848.

Kucera, C.J. u. J.C.S. Wong, 1986:
The development and testing of modified live,
chemically altered vaccinal strains of *Pasteu-*
rella haemolytica and *Pasteurella multocida*.
Proc. of XIII. World Congress on Diseases of
Cattle, Durban, Republic of South Africa, p.305.

La Brooy, J.T., G.P. Davidson, D.J.C. Shearman,
D. Rowley, 1980:
The antibody response to bacterial gastroenteritis
in serum and secretions.
Clin. exper. Immunol. 41, 290.

Lessley, B.A., A.W. Confer, D.A. Mosier, M.J.
Gentry, J.A. Durham, J.A. Rummage, 1985:
Saline-extracted antigens of *Pasteurella haemo-*
lytica: separation by chromatofocusing, preli-
minary characterization and evaluation of
immunogenicity.
Vet. Immunol. Immunopathol. 10, 279.

Lopez, A., M.G. Maxie, M. Savan, H.L. Ruhnke, R.G.
Thomson, D.A. Barnum, H.D. Geissinger, 1982:
The pulmonary clearance of *Pasteurella haemolytica*
in calves infected with bovine Virus Diarrhea or
Mycoplasma bovis.
Can. J. comp. Med. 46, 302.

Lu, Y-S. u. S.P. Pakes, 1981:

Protection of rabbits against experimental pasteurellosis by a Streptomycin-dependent *Pasteurella multocida* serotype 3:A live mutant vaccine.

Infection and Immunity 34, 1018.

Martin, S.W., 1983:

Vaccination: is it effective in preventing respiratory disease or influencing weight gains in feedlot calves?

Can. Vet. J. 24, 10.

Mayr, A., 1980:

Neue Impfstoffe und Immunisierungsmethoden bei Rind und Kalb.

Prakt. Tierarzt 61, 13.

Mayr, A., 1980:

Lokale Immunisierung und Paramunisierung: Neue Perspektiven für die Praxis.

Prakt. Tierarzt 61, 970.

Mayr, A., G. Eißner, B. Mayr-Bibrack, 1984:

Handbuch der Schutzimpfungen in der Tiermedizin.

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

Mayr, A., 1986:

Fortschritte bei der Immunisierung und Paramunisierung von Nutztieren.

Prakt. Tierarzt 10, 865.

Mosier, D.A., A.W. Confer, S.M. Hall, M.J. Gentry,
R.J. Panciera, 1986:

Enzyme-linked immunosorbent assay for detecting
of serum antibodies to *Pasteurella haemolytica*
cytotoxin (leukotoxin) in cattle.

J. Clin. Microbiol. 24, 218.

Müller, G. u. P. Heilmann, 1986:

Lokale und systemische Immunisierungen gegen eine
experimentelle Infektion von Mäusen mit *Pasteu-*
rella multocida.

Zbl. Bakt. Hyg. A 261, 370.

Nagy, K., I.Gde. Sudana, N. Hartaningshi, 1986:

Experimental challenge and field trials with oil-
adjuvanted capsular antigen of *Pasteurella mul-*
tocida type B.

Proc. of XIII. World Congress on Diseases of
Cattle, Durban, Republic of South Africa, p.291.

Newman, P.R., R.E. Corstvet, R.J. Panciera, 1982:

Distribution of *Pasteurella haemolytica* and
Pasteurella multocida in the bovine lung following
vaccination and challenge exposure as an indicator
of lung resistance.

Am. J. Vet. Res. 43, 417.

Ose, E.E. u. B.S. Münster, 1968:

A method for evaluation of vaccines containing
Pasteurella multocida.

Am. J. Vet. Res. 29, 1863.

Panciera, R.J. u. R.E. Corstvet, 1984:

Bovine pneumonic pasteurellosis: model for *Pasteurella haemolytica*- and *Pasteurella multocida*-induced pneumonia in cattle.

Am. J. Vet. Res. 45, 2532.

Rebers, P.A., K.L. Heddleston, K.R. Rhoades, 1967:

Isolation from *Pasteurella multocida* of a lipopolysaccharide antigen with immunizing and toxic properties.

J. Bact. 93, 7.

Rimler, R.B. u. K.R. Rhoades, 1981:

Lysates of turkey-grown *Pasteurella multocida*: protection against homologous and heterologous serotype challenge exposures.

Am. J. Vet. Res. 42, 2117.

Rolle, M. u. A. Mayr, 1984:

Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre für Tierärzte, Biologen und Agrarwissenschaftler.

Enke Verlag, Stuttgart

Rush, H.G., J.C. Glorioso, C.A. DaRif, L.C. Olson, 1981:

Resistance of *Pasteurella multocida* to rabbit neutrophil phagocytosis and killing.

Am. J. Vet. Res. 42, 1760.

Schimmel, D., P. Kielstein, W. Bruer, R. Putsche, R. Slucka, 1983:

Isolierung und Differenzierung von Pasteurellen aus dem Respirationstrakt des Kalbes.

Mh. Vet. Med. 38, 81.

Schmidberger, K., 1983:

Experimentelle Untersuchungen über die lokalen
Immunisierungsvorgänge im Dünndarm von Kälbern
nach oraler Immunisierung gegen *Salmonella typhi-*
murium.

Vet. Med. Diss. München

Shewen, P.E. u. B.N. Wilkie, 1982:

Antibody titers to *Pasteurella haemolytica* A₁ in
Ontario beef cattle.

Can. J. comp. Med. 46, 354.

Syuto, B. u. M. Matsumoto, 1982:

Purification of a protective antigen from a saline
extract of *Pasteurella multocida*.

Infection and Immunity 37, 1218.

Ungureanu, C., V. Minciuna, A. Jordache, U.

Fierlinger, 1981:

Immunoprophylaktische Methoden zur Vorbeugung der
Pneumopathien bei Jungrindern.

Arch. exper. Vet. med. 35, 437.

Ungureanu, C., A. Jordache, U. Fierlinger, C.

Lincan, J. Coman, 1981:

Pasteurella infections in respiratory diseases of
young cattle.

Arch. exper. Vet. med. 35, 453.

Waldner, E., 1982:

Untersuchungen zur oralen und intranasalen
Immunisierung gegen Pasteurellen bei Maus und Kalb.

Vet. Med. Diss. München

Waldner, D., 1984:

Prophylaxe mittels Paramunisierung und Immunisierung in Kälbermastbeständen unter Praxisbedingungen.

Vet. Med. Diss. München

Wilkie, B.N., R.J.F. Markham, P.E. Shewen, 1980:

Response of calves to lung challenge exposure with *Pasteurella haemolytica* after parenteral or pulmonary immunization.

Am. J. Vet. Res. 41, 1773.

Witzigmann, G., 1982:

Impfprophylaxe für Atemwegserkrankungen beim Rind. Prakt. Tierarzt 63, 112.

Yates, W.D.G., 1982:

A review of infectious bovine rhinotracheitis, shipping fever pneumonia and viral-bacterial synergism in respiratory disease of cattle.

Can. J. comp. Med. 46, 225.

Yates, W.D.G., P.H.G. Stockdale, L.A. Babiuk, R.J. Smith, 1983:

Prevention of experimental bovine pneumonic pasteurellosis with an extract of *Pasteurella haemolytica*.

Can. J. comp. Med. 47, 250.

Yates, W.D.G., L.A. Babiuk, K.W.F. Jericho, 1983:

Viral-bacterial pneumonia in calves: duration of the interaction between bovine Herpesvirus 1 and *Pasteurella haemolytica*.

Can. J. comp. Med. 47, 257.

Yates, W.D.G., 1983:

Experimental bovine pneumonic pasteurellosis.

Vet. Rec. 110, 381.

Zangerle, H., 1982:

Vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit einer Immunisierung mit einer polyvalenten Pasteurella-Vaccine und einer Paramunisierung mit den Inducern "Bayferon^R" und "PIND-ORF" bei respiratorischen Erkrankungen der Mastkälber.

Vet. Med. Diss. München

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr danke
ich für die Überlassung des Themas.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv. doz.
Dr. Dr. habil. G. Baljer für die großzügige
Unterstützung und die gewährte Betreuung.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau S. Hill,
vet.-med. techn. Assistentin im mikrobiolo-
gischen Labor, für ihre umfangreiche Hilfeleistung.

LEBENS LAUF

Geboren am 26.12.1958 als Tochter des Landwirts und Musikers Benedikt Klein und seiner Ehefrau Gertraud Klein, geb. Frey, Landwirtin, in Wollishausen/Augsburg.

1965 - 1970	Besuch der Volksschule in Wollishausen
1970 - 1977	Besuch des mathematisch-naturwissenschaftlichen Gymnasiums in Neusäß
1977 - 1980	Besuch des sozialwissenschaftlichen Ringeisen-Gymnasiums in Ursberg
27.6.1980	Allgemeine Hochschulreife
Nov.1980-Nov.1985	Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
Feb. - März 1983	Lehrgang für Besamungswarte an der Dr.Dr. Eibl-Ausbildungsstätte für Besamungswarte in Neustadt/Aisch
25.3.1983	Staatlich anerkannte Besamungsbeauftragte
19.11.1985	Tierärztliche Prüfung
2.1.1986	Approbation

Seit 2.1.1986 bin ich als Assistenztierärztin in der Tierarztpraxis Dr.H. Schedel in Memmingen tätig. In dieser Zeit habe ich vorliegende Arbeit angefertigt.

